

细胞-场效应管传感器及其应用 *

包家立 ** 傅齐锋

(浙江大学医学院浙江省生物电磁学重点实验室生物物理与医学工程研究组, 杭州 310058)

摘要 细胞膜电位是由细胞膜内外两侧离子浓度差所产生的电位差, 包含静息电位和动作电位. 电压钳和膜片钳是细胞膜电位检测和记录的主要技术, 电压钳的电极和膜片钳的玻璃管对细胞膜有刺激, 并且不能对细胞进行在线监测和记录. 细胞-场效应管传感器是一种用细胞膜电位通过场效应管栅极控制漏源电流, 从而感受细胞膜电位的新型器件, 具有对细胞膜无刺激、在线、长时程、实时等特点, 是细胞膜电位检测和记录的新技术, 可广泛应用于科学研究、药物开发、医疗器械、检验检疫、环境保护、公共安全等领域. 本文主要介绍这种传感器的结构、转移特性、等效电路、制备工艺以及动作电位记录、细胞生长实时监测、细胞外分泌监测、肿瘤标志物检测等方面的应用.

关键词 细胞-场效应管, 神经元-场效应管, 细胞膜电位

学科分类号 Q337, TN386

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0162

细胞膜电位是由细胞膜内外两侧离子浓度差所产生的电位差, 包含静息电位和动作电位. 动作电位作为生物信号, 在生物系统的调控中起着主导作用, 其记录技术是电生理学研究的关键技术. 常用的细胞膜电位检测采用电压钳和膜片钳, 电压钳是一种全细胞膜电位检测^[1], 膜片钳则是单离子通道电流检测^[2-3]. 电压钳的电极和膜片钳的玻璃管是检测细胞膜电位的标准方法, 这种方法一方面对细胞膜有刺激, 改变细胞原生状态, 另一方面, 不能对细胞在培养期进行长时间实时记录. 近年来, 新发明的细胞-场效应传感器^[4-5]和微电极^[6-7]可以对细胞膜电位进行无扰动记录, 是电生理记录具有潜力的新技术. 其中细胞-场效应传感器包括两类: 一类是细胞电特性传感, 如神经元、肌细胞动作电位特性的耦合; 另一类是细胞能量代谢和细胞事件传感, 如细胞生长、细胞毒性等.

1991年, 德国乌尔姆大学物理系 Fromherz 和 Offenhausser 等^[8]研制了一种将水蛭神经元附在 *p*-沟道场效应管栅极上的神经元-场效应管传感器 (neuron-field effect transistor, neuron-FET). 之后, Fromherz 在德国马普生化研究所膜与神经物理系对这种传感器在制作工艺、等效电路、传感器结构、生物实验等方面作了进一步研究^[9-12].

Offenhausser 在日本物理与化学研究所前沿研究项目组 and 德国马普高分子研究所, 研究 4×4 细胞-场效应管阵列的制备工艺和相关检测系统^[13-14]. 2001 年以来, Offenhausser 在德国于利希研究中心薄膜与接口研究所研究了 4×4 心肌细胞-场效应管阵列^[15-16]、背部接触 4×4 阵列^[17]、8×8 阵列^[18-19]、浮栅场效应管^[20-21], 进行单细胞膜外电位记录^[22]、钾离子电流检测^[23]、淋巴结肿瘤细胞检测^[24].

这种传感器采用先进的微纳加工技术 (micro-electro-mechanical system, MEMS) 和信号处理技术, 将传感器阵列集成在一个硅片上, 通过探测细胞膜电位、离子通道电流, 检测细胞离子变化、神经递质、受体等生理或生化事件, 是实时、快速、微量监测细胞反应、应激、代谢、物质转运、信号转导的有力工具. 这种活细胞和硅片结合, 创建了一种具有尺寸小、重量轻、响应快、可靠性高等新的独特功能和科学研究、医疗健康、药物开发、环

* 浙江省基础公益研究计划“细胞-场效应传感器的研制”(LGF18H180002)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 0571-88208171, E-mail: baojl@zju.edu.cn

收稿日期: 2017-04-27, 接受日期: 2018-03-23

境保护、现代农业等应用前景的系统。

1 细胞-场效应管结构

神经元-场效应管结构如图1所示^[8]。该器件是 n 基底 p -沟道场效应管，神经元贴敷在栅极(G)隔离层上(O_F)，细胞外液(E)接地，基底(B)、源极(S)、漏极(D)接正电压，漏源电流被栅极电压所调制。微电极(ME)刺入神经元，并用电流(I_s)刺激细胞，膜电位就会被随后的电压所测量。

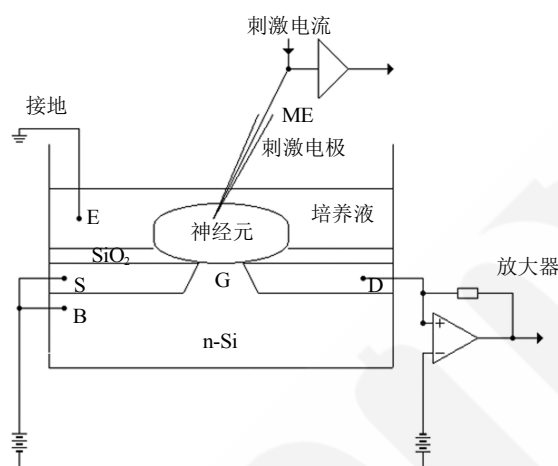


Fig. 1 Neuron-FET junction

图1 神经元-场效应管结

Retzius 细胞是水蛭的节段性神经节，直径约 $60\ \mu\text{m}$ ，动作电位约 $40\sim 60\ \text{mV}$ 。用平面技术在 n 型硅片上扩散连接源极和漏极制备出 p 沟道绝缘栅场效应管，源极和漏极长 $6\ \mu\text{m}$ ，宽 $30\ \mu\text{m}$ ，厚 $20\ \text{nm}$ ，透明塑胶腔固定在硅片上，栅极用聚-L-赖氨酸包被，用水蛭任氏电解液($\text{pH } 7.4$)填充腔室。Retzius 细胞贴在玻璃吸管的尖端，并在视觉控制下安装在栅极上，完成神经元-场效应管的制备。芯片大小 $30\ \text{mm}\times 10\ \text{mm}$ ，栅极大小 $50\ \mu\text{m}$ ，细胞完全覆盖在栅极窗口上，栅极电阻 $1\ \text{T}\Omega$ ，沟道电阻 $5\sim 10\ \Omega/\text{cm}$ ^[10]。

利用神经元-场效应管传感器的结构有设计传感器阵列，如表1所示。一般地，细胞-场效应管传感器连线是在正部，也有设计在背部，其优点是封装简单^[17]。Law 和 Koppenh fer 等^[25-26]研究用场效应管阻抗谱监控 T 细胞迁移和监控过氧化氢诱导的细胞凋亡，人类胚胎肾细胞外缓冲液导电率的影响和记录谱的影响^[27]。Shappir 等^[28]采用 $0.5\ \mu\text{m}$ CMOS 技术研制了一种耗尽型浮栅(FG) p 沟道场效应管，用增加硼植入剂来形成耗尽层，后 CMOS 处理增加感应区。神经元通过 $420\ \text{\AA}$ 热氧化耦合到多晶硅(PS)FG，耦合区组合垫有一个直径 10 或 $15\ \mu\text{m}$ 并且具有 W/L 为 $50/0.5\ \mu\text{m}$ 的感应晶体管，

Table 1 The structures of Cell-FET sensors

表1 细胞-场效应管传感器结构

器件名	主要发明者	特性
神经元-场效应管	Fromherz 和 Offen�usser 等 ^[8]	源漏电极 $6\ \mu\text{m}\times 30\ \mu\text{m}\times 20\ \text{nm}$ ，Retzius 神经元
4×4 场效应管阵列	Offen�usser 等 ^[13-15]	芯片 $4.4\ \text{mm}\times 5.0\ \text{mm}$ ，皿面积 $6\ \text{mm}^2$ ，传感区 $200\ \mu\text{m}$ ，4×4 矩阵，栅极 $28\ \mu\text{m}\times 12\ \mu\text{m}\sim 10\ \mu\text{m}\times 4\ \mu\text{m}$ ，顶层硅氧化物，海马神经元和心肌细胞。
背部接触的 4×4 场效应管阵列	Offen�usser 等 ^[17]	栅极 $2\ \mu\text{m}\times 38\ \mu\text{m}$ ，信噪比 $S/N=7.5\sim 1.5$ ，信号 $V_{mp}=1.5\sim 0.3\ \text{mV}$ ，心肌细胞。
8×8 场效应管阵列(EGE)	Offen�usser 等 ^[18-19]	芯片 $11\ \text{mm}\times 11\ \text{mm}$ ，皿面积 $38\ \text{mm}^2$ ，传感区 $100\sim 200\ \mu\text{m}$ ，8×8 矩阵，栅极直径 $60\sim 30\ \mu\text{m}$ ，顶层硅氧化物，心肌细胞。
8×8 场效应管阵列	Ingebrandt 等 ^[26]	芯片 $7\ \text{mm}\times 7\ \text{mm}$ ，皿面积 $49\ \text{mm}^2$ ，传感区 $12\sim 5\ \mu\text{m}$ ，顶层硅氧化物，T 细胞。
浮栅(FG)场效应管	Shappir 等 ^[28-29]	传感区 $0.5\ \mu\text{m}\times 50\ \mu\text{m}$ 或 $0.8\ \mu\text{m}\times 32\ \mu\text{m}$ ，电容耦合率约 0.5。
金属绝缘场效应管(MISFET)	Temple-Boyer 等 ^[30-31]	芯片面积 $1\ \text{mm}^2$ ，传感区 $35\ \mu\text{m}\times 10\ \mu\text{m}\times 50\ \text{nm}$ ，16 阵列，视网膜神经元。
有机电荷调制场效应管(OCMFET)	Spanu 等 ^[32]	芯片面积 $50\ \text{mm}\times 50\ \text{mm}$ ， Ca^{2+} 检测。
胞内场效应传感器(BIT-FET)	Lieber 等 ^[33]	传感器内径 $50\ \text{nm}$ ， SiO_2 层厚 $50\ \text{nm}$ ，栅极纳米管内径 $< 3\ \text{nm}$ ，长 $1.5\ \text{mm}$ 。
硅纳米场效应管(SiNW)	Lieber 等 ^[34]	传感面积 $0.2\ \mu\text{m}^2$ ，传感器间隔 $20\ \text{nm}$ ，神经细胞轴突和树突。
阵列式细胞电生理信号传感芯片	朱大中等 ^[35]	芯片面积 $2\ \text{mm}\times 2\ \text{mm}$ ，传感区 $0.5\ \text{mm}\times 0.5\ \text{mm}$ ， $0.6\ \mu\text{m}$ 标准 CMOS 工艺，6×6 阵列，栅极 $15\ \mu\text{m}\times 15\ \mu\text{m}$ ，模拟细胞环境。
场效应细胞培养皿	包家立等 ^[36]	皿底面积 $40\ \text{mm}\times 40\ \text{mm}$ ，皿壁直径 $30\ \text{mm}$ ，高 $8\ \text{mm}$ ；传感器阵列区域 $21\ \text{mm}\times 21\ \text{mm}$ ；传感区 $20\ \mu\text{m}\times 20\ \mu\text{m}$ ；间距 $10\ \mu\text{m}$ 。

电容耦合的神经元信号比率约为 0.5^[28]. 在浮栅电极上培养海兔神经元, 发现在培养的神经元上通过轴突、胞体、突触的神经元隔间电流产生的动作电位生成场电位, 生成的场电位波形很大程度上取决于神经元的形态^[29]. 这种传感器有以下优点:

(a) 不需要在神经元培养与晶体管预期结果和硅死耐久性之间的直流偏压;

(b) 神经元活性的传感区从晶体管活跃区分开, 使传感区和通道区可以设计分开;

(c) 通道区可以从神经元培养的离子溶液中绝缘和屏蔽;

(d) 有一个选项添加一个开关晶体管到浮栅以及用浮栅的神经元刺激.

朱大中等^[35]采用 0.6 μm CMOS 工艺研制了 6×6 单元有源传感阵列式细胞电生理信号传感芯片, 集成了阵列、模拟多路选择器、输出缓冲器、参考源和数字控制电路, 实现了传感电路和后端信号处理电路的集成化.

2 转移特性

在场效应管中, 转移特性是指栅极电压 V_{GS} 与漏极电流 I_{DS} 之间的关系, 它反映了输出特性. 绝缘栅场效应管有增强型 p -沟道、增强型 n -沟道、耗尽型 p -沟道和耗尽型 n -沟道 4 种. 图 2 是增强型 p -沟道神经元-场效应结的转移特性.

当细胞静息时, 增强型 p -沟道场效应管(FET)的栅源电压 V_{GS} 为负性的细胞膜静息电位. 为确保负性栅极电压的控制力, 漏源电压 V_{DS} 也应保持负性, 如图 2 中的 V_{DS} . 在 V_{DS} 恒定的情况下, V_{GS} 负性愈大, 增强了 p -沟道的反型层, 漏源电阻降低, 漏极电流 I_{DS} 负向增加, 如图 2 中的 I_{DS} . V_{DS} 反向

增加, 加大了栅漏的电压差, 提高了反型层电位梯度, 也导致 I_{DS} 负向增加, 如图 2 中大的负向 V_{DS} , 具有大的负向 I_{DS} . 当 V_{GS} 负性减小或正向增大, p -沟道反型层减小, 沟道被截断, 漏极电流 I_{DS} 为 0 (图 2). 在刚产生零漏极电流所对应的 V_{GS} 电压称为截断电压. 无论 V_{DS} 为何值, 截断电压都是一样的.

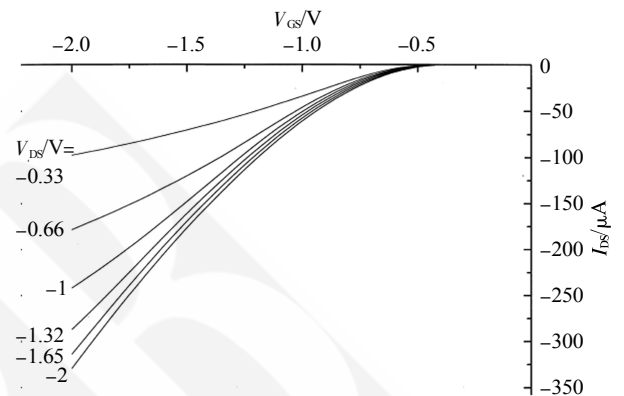


Fig. 2 The transfer characteristic of p-channel Cell-FET

图 2 增强型 p -沟道细胞-场效应管转移特性

细胞静息时, 静息电位负性较大, 传感器有较大的漏极电流 I_{DS} . 微电极电流刺激产生了动作电位, 即 V_{GS} 负性减小, 正性增大, 漏源电流 I_{DS} 较小, 甚至为 0. I_{DS} 与动作电位成一阶导数. 神经元-场效应偶联强度可变性和神经元自身活动性是影响转移特性 $I_{\text{DS}}-V_{\text{GS}}$ 的 2 个因素.

当细胞膜动作电位控制了细胞-场效应管传感器的栅源电压 V_{GS} , 从图 2 转移特性的对应, 可以获得与动作电位变化对应的漏极电流 I_{DS} 变化 (图 3).

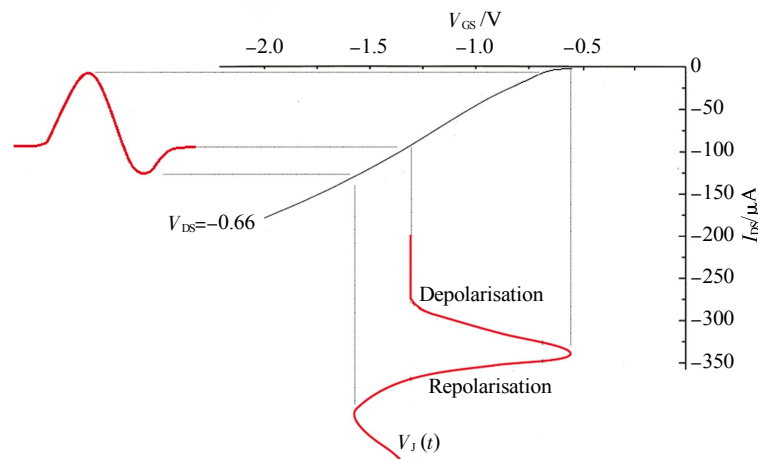


Fig. 3 Active potential of cell recording by Neuron-FET

图 3 神经元-场效应管结记录的细胞电位

3 细胞-场效应管结等效电路

神经元-场效应管结的等效电路如图4所示。 C_{JM} 和 R_{JM} 是神经元-场效应管结膜电容和膜电阻; C_{JG} 是栅极结电容, R_J 是膜与栅极的间隙电阻。 V_M 是细胞膜电压, V_J 是神经元-场效应管结电压。通过 C_{JG} 的电压由下列方程所描述:

$$\frac{dV_J}{dt} = \frac{C_{JM}}{C_{JM}+C_{JG}} \frac{dV_M}{dt} - \frac{1}{R_J(C_{JM}+C_{JG})} V_J \quad (1)$$

当 $C_{JM}=0.6\text{pF}$, $C_{JG}=0.1\text{pF}$, R_J 分别是0.25、1、4、16 G Ω , 微电极刺激是电压 $V_M=40\text{mV}$, 脉宽2 ms的高斯型脉冲膜电压, 则细胞膜电压 $V_J(t)$ 如图3所示。从这个图中可见, 记录的电位均为负值, 符合 p -沟道细胞-场效应管转移特性。

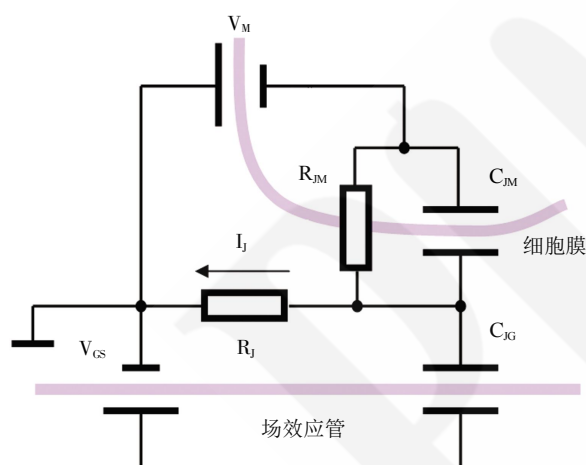


Fig. 4 A minimal circuit of the neuron-transistor junction

图4 神经元-场效应管结等效电路

4 制备工艺

场效应管制备主要有清洗、匀胶、曝光、显影、坚膜、电极制作、刻蚀、切割等工艺。硅片工艺和神经芯片装配工艺是细胞-场效应管的关键技术。

4.1 硅片工艺

从表面(100)、电阻 $5\sim 10\ \Omega/\text{cm}$ 的 n 型硅片上切割一块 $30\text{mm}\times 10\text{mm}$ 芯片, 在掩膜氧化物用氟化铵溶液在 $1\ 000^\circ\text{C}$ 腐蚀开16个径向道生长, 湿氧气道 2.5mm 长(芯片中心 $0.5\sim 3\text{mm}$), 第一个毫米宽 $60\ \mu\text{m}$, 向外逐步扩大到 $700\ \mu\text{m}$, 这些 p 型道用硼、直流电阻 $400\ \Omega$ 。场氧化物($1\ \mu\text{m}$)在

$1\ 000^\circ\text{C}$ 生长, 刺激点(直径 $20\sim 50\ \mu\text{m}$)被蚀刻在道内末端, 覆盖一层薄氧化物(大约 10nm), 在 $1\ 100^\circ\text{C}$ 干氧气快速热处理炉中生长。打开后连接道周边的点, 用钢丝粘合。最后, 树脂玻璃室(半径 1.5mm)用硅酮胶粘结。从导电通道末端分离的刺激点区域连接到外部的电极。

4.2 神经元装配

从欧洲医蛭(*Hirudo medicinalis*)中分离的Retzius细胞, 并保存在具有培养基(L-15)的塑料培养皿, 培养基具有2%胎牛血清(Gibco)、 5g/L 葡萄糖和 50mg/L 硫酸庆大霉素培养3天以上。细胞被胞外基质包被, 胞外基质用分散酶/胶原酶处理30 min后移去。用基本过氧化氢(30%过氧化氢, 30%氨水=1:1.5)热(80°C)清除芯片。用赖氨酸滴(1g/L 水, 相对分子质量 $15\ 000\sim 30\ 000$)作为粘合剂滴到刺激点并干燥 $2\sim 3\text{h}$ 。然后, 玻璃室用水冲洗3 h并充满无血清培养基。用玻璃吸管(齿顶圆直径约 $100\ \mu\text{m}$)吸进一个神经元, 转移到玻璃室, 在立体显微镜下观察控制转移一个刺激点。

$0.5\ \mu\text{m}$ CMOS和 $0.6\ \mu\text{m}$ CMOS工艺都是场效应管制备的标准工艺, 细胞-FET传感器制作依赖于这些技术^[28, 35]。

5 应用

5.1 动作电位的记录

Temple-Boyer等^[30]采用 n -沟道金属氧化物半导体场效应管(MOSFET)/化学FET并行检测和微流控技术开发精密探测产物, 形成拓扑定义和稳定的神经网络, 个别神经视网膜感觉细胞和椎实螺属蜗牛被固定在MOSFET。神经元定位实现了神经动作电位的记录, 通过注入成苦味毒-GABA苦味毒功地触发和抑制, 表现出苦味毒的“上升”动作电位波形。神经元培养和后续活动监视整个过程的实现构成一个原理验证为适应低密度神经元培养信号处理研究的神经电子系统^[31]。Spanu等^[32]研制了一种用于细胞电活动监测的灵活、透明、无参考电极的有机电荷调制场效应管(OCMFET), 这种对于活性物质有机电子接口的开发打开电生理领域新的方法, 提供现代灵活、无参考电极、低成本、高时空分辨率的新一代体外和体内监测平台。Lieber等^[33]研发了一种带电极的场效应传感器, 该电极在工作时插入细胞内充当栅极, 其材料为二氧化硅, 尺寸可以小到 3nm , 远小于膜片钳电极尺度, 并且可以多传感器结合进行高通量检测细胞膜动作电位^[33]。

5.2 细胞电信号传播的检测

Lieber 等^[34]设计了硅纳米场效应管(SiNW FET)阵列来检测神经细胞的轴突和树突上电信号的传播. 主要方法是将神经细胞吸附在传感器阵列适当位置, 给予一个 IC 刺激后, 在传感器时间维度上先后记录到电位峰值, 通过不同实验设计得出了电信号在皮质神经的传播延迟, 以及在轴突和树突上双向传播的差别.

5.3 细胞生长的实时监测

林书平等^[37]在硅纳米场效应管(SiNW FET)上培养肾上腺嗜铬细胞瘤(PC12), 研究记录了在 5~7 天内细胞的生长和分化时的形态以及电阻抗的变化, 以证明这种传感器是可以研究神经细胞生长和分化的时间进程的. 此外, 还发现了细胞溶解时对电阻抗变化影响很大.

5.4 细胞外分泌的监测

曹英秋和 Phelps 等^[38]用浮栅场效应管检测肥大嗜铬细胞胞外分泌. 在实验中用 IgE 激活肥大细胞, 并用 BSA-DNP 抗原去刺激细胞, 以使其产生分泌反应, 在浮栅场效应管下检测细胞膜准静态表面电势的变化, 同时用荧光标记的方法来对比检测相同刺激下细胞钙离子浓度的变化情况, 发现两者在时相上具有高度的一致性, 说明浮栅场效应管所测得的结果是正确可靠的.

5.5 肿瘤生物标志物检测

大阪哲等^[39]发明了一种可用于肺癌诊断的 FET 传感器, 具有实时、灵敏、无特定标签、多组分分析等特点. 其检测的是 2 种肿瘤标志物(CYFRA 21-1 和 NSE), 在 FET 传感器芯片两端上分别耦合这 2 种标志物的抗体(也可以只用一种抗体进行单一成分分析), 然后通过一系列的操作使需检测蛋白与传感器接触反应一段时间, 在监测器上的 V_g 电位信号变化, 表征了 ELISA 的进行程度以及量级, 即可以说明是否存在肿瘤标志物.

6 结束语

细胞-场效应管传感器最主要的优点在于无刺激、在线、长时程、实时检测和记录细胞动作电位. 近年来主要集中在细胞培养时的实时监视和膜电位记录. 实时监测和记录对于研究扰动因素, 如电磁暴露、温度、药物等是非常重要的, 是确认外源影响因素的强有力工具^[40]. 存在的问题有: a. 离子的背景噪声. 培养液中的一些离子成分, 会对检测造成一定偏差, 如何选择合适的离子是今

后需要研究的一个方向; b. 电极材料的选择. 合适的材料能明显有效地增强对电位变化的感知, 绘制对比度更高的电位图.

总体上, 细胞-场效应传感器新技术的出现将改变神经生物学、细胞生物学等的研究方法, 在药物开发、医疗器械、检验检疫、环境保护、公共安全等领域产生新的技术变革.

参 考 文 献

- [1] Cole K S. Squid axon membrane-impedance decrease to voltage clamp. *Annual Review of Neuroscience*, 1982, **5**(1): 305-323
- [2] Neher E, Sakmann B. Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature*, 1976, **260**(5554): 799-802
- [3] Conti F, Neher E. Single-channel recordings of K^+ currents in squid axons. *Nature*, 1980, **285**(5761): 140-143
- [4] Offenhäusser A, Knoll W. Cell-transistor hybrid systems and their potential applications. *Trends in Biotechnology*, 2001, **19**(2):62-66
- [5] Poghosiana A, Ingebrandt S, Offenhäusser A, *et al*, Field-effect devices for detecting cellular signals. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2009, **20**(1): 41-48
- [6] Wightman R M. Probing cellular chemistry in biological systems with microelectrodes. *Science*, 2006, **311**(5767): 1570-1574
- [7] Kita J M, Wightman R M. Microelectrodes for studying neurobiology. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2008, **12**(5): 491-496
- [8] Fromherz P, Offenhäusser A, Vetter T, *et al*, A neuron- silicon junction: a retzius cell of the leech on an insulated - gate field-effect transistor. *Science*, 1991, **252**(5010):1290-1293
- [9] Fromherz P, Muller C O, Weis R. Neuron transistor: electrical transfer function measured by the patch-clamp technique. *Physical Review Letters*, 1993, **71**(24): 4079-4083
- [10] Fromherz P, Stett A. Silicon-neuron junction: capacitive stimulation of an individual neuron on a silicon chip. *Physical Review Letters*, 1995, **75**(8): 1671-1673
- [11] Stett A, Müller B, Fromherz P. Two-way silicon-neuron interface by electrical induction. *Physical Review E*, 1997, **55**(2):1779-1782
- [12] Kaul RA, Syed N I, Fromherz P. Neuron-semiconductor chip with chemical synapse between identified neurons. *Physical Review Letters*, 2004, **92**(3): 038102
- [13] Offenhäusser A, Sprössler C, Matsuzawa M, *et al*, Field-effect transistor array for monitoring electrical activity from mammalian neurons in culture, *Biosensors and Bioelectronics*, 1997, **12** (8): 819-826
- [14] Sprössler C, Richter D, Denyer M, *et al*. Long- term recording system based on field-effect transistor arrays for monitoring electrogenic cells in culture. *Biosensors and Bioelectronics*, 1998, **13**(6): 613-618
- [15] Ingebrandt S, Yeung C K, Krause M, *et al*. Cardiomyocyte-transistor-hybrids for sensor application. *Biosensors and Bioelectronics*, 2001, **16**(7): 565-570

- [16] Schäfer S, Eick S, Hofmann B, *et al.* Time-dependent observation of individual cellular binding events to field-effect transistors. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009, **24**(5): 1201–1208
- [17] Ingebrandt S, Yeung C K, Staab W, *et al.* Backside contacted field effect transistor array for extracellular signal recording. *Biosensors and Bioelectronics*, 2003, **18**(4): 429–435
- [18] Krause, M, Ingebrandt, S, Richter, D, *et al.* Extended gate electrode array for extracellular signal recording. *Sensors & Actuators B*, 2000, **70**(1–3): 101–107
- [19] Ecken H, Ingebrandt S, Krause M, *et al.* 64-Channel extended gate electrode arrays for extracellular signal recording. *Electrochimica Acta*, 2003, **48**(20–22): 3355–3362
- [20] Meyburg S, Goryll M, Moers J, *et al.* N-channel field-effect transistors with floating gates for extracellular recordings. *Biosensors and Bioelectronics*, 2006, **21**(9): 1037–1044
- [21] Meyburg S, Stockmann R, Moers J, *et al.* Advanced CMOS process for floating gate field-effect transistors in bioelectronic applications. *Sensor and Actuators B*, 2007, **128**(1): 208–217
- [22] Ingebrandt S, Yeung C K, Ingebrandt S, *et al.* Neuron-transistor coupling interpretation of individual extracellular recorded signals. *Eur Biophys J*, 2005, **34**(2): 144–154
- [23] Wrobel G, Seifert R, Ingebrandt S, *et al.* Cell-transistor coupling: investigation of potassium currents recorded with p- and n-channel FETs. *Biophysics J*, 2005, **89**(5): 3628–3638
- [24] Tran D P, Winter M A, Wolfrum B, *et al.* Toward intraoperative detection of disseminated tumor cells in lymph nodes with silicon nanowire field effect transistors. *ACS Nano*, 2016, **10**(2): 2357–2364
- [25] Law J K Y, Susloparova A, Vu X T, *et al.* Human T cells monitored by impedance spectrometry using field-effect transistor arrays: A novel tool for single-cell adhesion and migration studies. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, **67**: 170–176
- [26] Koppenhöfer D, Kettenbaum F, Susloparova A, *et al.* Neurodegeneration through oxidative stress: monitoring hydrogen peroxide induced apoptosis in primary cells from the subventricular zone of BALB/c mice using field-effect transistors. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, **67**: 490–496
- [27] Hempel F, Nguyen T C, Law J K Y, *et al.* The influence of medium conductivity on ECIS measurements with field-effect transistor arrays. *Phys Status Solidi A*, 2015, **212**(6): 1260–1265
- [28] Cohen A, Spira M E, Yitzchaik S, *et al.* Depletion type floating gate p-channel MOS transistor for recording action potentials generated by cultured neurons. *Biosensors and Bioelectronics*, 2004, **19**(12): 1703–1709
- [29] Cohen A, Shappir J, Yitzchaik S, *et al.* Experimental and theoretical analysis of neuron-transistor hybrid electrical coupling: the relationships between the electro-anatomy of cultured Aplysia neurons and the recorded field potentials. *Biosensors and Bioelectronics*, 2006, **22**(5): 656–663
- [30] Larramendy F, Mathieu F, Charlota S, *et al.* Parallel detection in liquid phase of N-channel MOSFET/Chem FET microdevices using saturation mode. *Sensor and Actuators B*, 2013, **176**(6): 379–385
- [31] Larramendy F, Bendali A, Blatché M C, *et al.* MISFET-based biosensing interface for neurons guided growth and neuronal electrical activities recording. *Sensor and Actuators B*, 2014, **203**(21): 375–381
- [32] Spanu A, Lai S, Cosseddu P, *et al.* An organic transistor-based system for reference-less electrophysiological monitoring of excitable cells. *Scientific Reports*, 2015, **5**: 8807
- [33] Duan X J, Gao R X, Xie P, *et al.* Intracellular recordings of action potentials by an extracellular nanoscale field-effect transistor. *Nature Nanotechnology*, 2012, **7**(3): 174–179
- [34] Patolsky F, Timko B P, Yu G H, *et al.* Detection, stimulation, and inhibition of neuronal signals with high-density nanowire transistor arrays. *Science*, 2006, **313**(5790): 1100–1104
- [35] 朱婷, 朱大中, 施朝霞. 阵列式 CMOS 细胞电信号传感芯片. 固体电子学研究与进展, 2005, **25**(4): 507–512
Zhu T, Zhu D Z, Shi Z X. Reseach & Progress of SSE, 2005, **25**(4): 507–512
- [36] 包家立, 李宇波, 周圣直. 场效应细胞培养皿系统及应用. 中国, 201210282543.8[p]. 2013-9-11
Bao J L, Li Y B, Zhou S Z. CN201210282543.8[p]. 2013-9-11
- [37] Lin S P, Vinzon L U, Kan Y S, *et al.* Non-faradaic electrical impedimetric investigation of the interfacial effects of neuronal cell growth and differentiation on silicon nanowire transistors. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2015, **7**(18): 9866–9878
- [38] Jayant K, Singhai A, Cao Y Q, *et al.* Non-faradaic electrochemical detection of exocytosis from mast and chromaffin cells using floating gate MOS transistors. *Scientific Reports*, 2015, **5**: 18477
- [39] Cheng S S, Hideshima S, Kuroiwa S, *et al.* Label-free detection of tumor markers using field effect transistor (FET)-based biosensors for lung cancer diagnosis. *Sensors and Actuators B*, 2015, **212**: 329–334
- [40] 郑秀秀, 包家立, 朱朝阳. 电磁扰动下的细胞系统鲁棒性研究. 高压技术, 2014, **40**(12): 3837–3845
Zheng X X, Bao J L, Zhu Z Y. High Voltage Engineering, 2014, **40**(12): 3837–3845

Cell-FET Sensors and Their Potential Application*

BAO Jia-Li**, Fu Qi-Feng

*(Research Team of Biophysics and Medical Engineering, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Bioelectromagnetics,
School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)*

Abstract The membrane potential of a cell is produced by the difference between intracellular and extracellular ion concentrations, which can be categorized into either resting potential or action potential. Voltage clamp and patch clamp are the main techniques to detect and record the membrane potential. And the electrode in the voltage clamp and glass tube in the patch clamp can stimulate the cell membrane and can't monitor or record the potential online. Cell-field effect transistor is a kind of sensor for membrane potential detection which controls the leakage source current of the device at the grid, so as to sense the membrane potential of cell. It is a new technology of membrane potential detection and record, and its advantage is that detecting without stimulation to the cell membrane, and monitoring at real time for a long time length. And it can be widely applied to the fields such as scientific research, drug development, medical device, inspection and quarantine, environmental protection, public security, and so on. This paper introduced the structure, transfer characteristic, equivalent circuit, preparation technology of the cell-FET sensor, and application in action potential recording, real-time monitoring of cell growth, monitoring of exocytosis, and detecting of tumor biomarker.

Key words cell-FET, neuron-FET, cell membrane potential

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0162

* This work was supported by a grant from Public Welfare Research Plan of Zhejiang Province (LGF18H180002).

**Corresponding author.

Tel: 86-571-88208171, E-mail: baojl@zju.edu.cn

Received: April 27, 2017 Accepted: March 23, 2018